

(5)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-267811

(43)Date of publication of application : 17.10.1995

(51)Int.Cl.

A01N 63/00
C12N 1/14
// (C12N 1/14
C12R 1:645)

(21)Application number : 06-083733

(71)Applicant : IBARAKI PREF GOV
EISAI SEIKAKEN KK

(22)Date of filing : 31.03.1994

(72)Inventor : OGAWA FUMI
WATANABE TAKESHI
ODA MASABUMI

(54) AGRICULTURAL AND HORTICULTURAL FUNGUS PREPARATION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a fungus preparation having both plant growth promoting effect and suppressing effect on disease injury of soil by using a nonpathogenic fungus of the genus *Fusarium*.
CONSTITUTION: This fungus preparation, namely agricultural and horticultural fungus preparation, uses a fungus of the genus *Fusarium*, has both plant growth promoting action and inhibitory action on disease injury of soil and is capable of protecting a plant from disease injury. Especially *Fusarium oxysporum* NPF101-2 (FERM P-14,236) and *Fusarium oxysporum* ES-S1305 (FERM P-13896) are preferable as the fungus to be used. The fungus is preferably a cell of the fungus, a cell-containing substance or a treated material thereof. *Fusarium oxysporum* NPF101-2 (FERM P-14,236) is obtained from vessel of sweet potato. *Fusarium oxysporum* ES-S1305 (FERM P-13896) is obtained from root of a vessel of *Cymbidium*.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 26.06.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 03.06.2003

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-267811

(43) 公開日 平成7年(1995)10月17日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 N 63/00	E			
C 1 2 N 1/14	A	8828-4B		
// (C 1 2 N 1/14				
C 1 2 R 1:645)				

審査請求 未請求 請求項の数6 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平6-83733

(22) 出願日 平成6年(1994)3月31日

(71) 出願人 591106462
茨城県
茨城県水戸市三の丸1丁目5番38号
(71) 出願人 391029495
エーザイ生研株式会社
東京都文京区本郷4丁目8番13号
(72) 発明者 小川 奎
茨城県つくば市松代5丁目9番地5,
608-1
(72) 発明者 渡辺 健
茨城県水戸市石川3丁目4137番6号
(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 農産園芸用微生物製剤

(57) 【要約】

【構成】 フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) に属し、植物生育促進能と土壌病害抑制能とを併有する微生物、及び、この微生物を含有する農園芸用微生物製剤。

【効果】 安全性の高い生物防除システムが提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) に属し、植物生育促進機能と土壌病害抑制機能とを併有することを特徴とする微生物。

【請求項2】 微生物がフザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) NPF101-2 (FERM P-14236) であることを特徴とする請求項1に記載の微生物。

【請求項3】 微生物がフザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) ES-シ305 (FERM P-13896) であることを特徴とする請求項1に記載の微生物。

【請求項4】 請求項1～請求項3のいずれか1項に記載の微生物を含有することを特徴とする農産園芸用微生物製剤。

【請求項5】 植物生育促進効果と土壌病害抑制効果とを併有する請求項4に記載の農産園芸用微生物製剤。

【請求項6】 微生物が、微生物菌体、同菌体含有物、及び／又は処理物であることを特徴とする請求項4～請求項5に記載の農産園芸用微生物製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、農産園芸用微生物製剤に関するものであって、更に詳細には、本発明は、非病原性のフザリウム菌を利用したもので、植物生育促進効果があると同時に土壌病害の抑制効果を持つ微生物製剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 土壌中の病原菌が植物に侵入して生じる土壌病害に対しては、従来、化学農薬が使用されている。特にクロルピクリンや臭化メチル等の燻蒸剤は有効ではあるが、土壌中の菌を根こそぎ殺菌してしまうため、微生物相をかえてしまい健全な作物ができなくなるばかりでなく、環境に対する悪影響が懸念されている。

【0003】 近年、無農薬栽培が望まれている中で、農薬に代わる安全で有効な病害防除として有望視されているものとしては、植物に有用で無害な、自然界に存在する微生物を利用する、生物防除方法が挙げられる。

【0004】 実際には、バチルス属菌、シュドモナス属菌、トリコデルマ属菌等が知られ、土壌病害菌に対する拮抗微生物として病害を防除することがわかっている。また非病原性フザリウム菌が病害に対して抵抗性を植物に付与する作用で病害防除効果があることが知られている。それらの一部は、実際に微生物製剤として販売されているものもある。

【0005】 また微生物が植物の根に共生して植物の生長や発根を促進し病害に強くなることも知られている。根瘤菌やVA菌根菌などがこの微生物として挙げられる。

【0006】 フザリウム菌については、非病原性フザリウム菌が交叉防御作用により植物に病害抵抗性を付与することは知られているが、これが植物の生育を促進する作用を有することは知られていない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 環境問題や安全性の観点から、化学農薬によらない植物病害防除システムの確立が当業界において要請されている。そのため、拮抗微生物や共生微生物による土壌病害の防除は安全で環境にも優しい方法であるが、条件によってはうまく働かないで効果が出ない場合も多く見受けられる。土壌病原菌に作用するだけでなく、植物に直接作用して生育促進作用を付与すると、病害に耐性が付き罹病してもダメージが少なくなると考えられる。

【0008】 すなわち、本発明者らは、動物においても身体を丈夫にするとともに病原菌を抑制すれば病気の回復が更に促進されることに鑑み、植物においてもこの考えが適用できるのではないかと新しい観点にたち、植物を健全に育成すると同時に植物病害も抑制しうる、いわば植物の内外から植物病害を防除しうる新しいシステムを開発する必要性にはじめて認識した。

【0009】 つまり、植物に対して生育促進作用を持ち、同時に土壌病害に対する抑制作用を持つものがあれば、病害に対してより強固に植物を守ることができるはずであり、本発明は、このような新しい植物病害防除システムの開発を課題とするものである。

【0010】

【課題を解決するための手段】 上記目的達成のため、各方面から研究した結果、以下のような菌株を発見した。本発明者らは、健全なサツマイモの導管から分離した非病原性フザリウム菌がサツマイモの割病に対して防除効果があることを既に発見していたが、サツマイモの割病だけでなくトマト萎ちょう病、ホウレンソウ萎ちょう病等に対しても防除効果があるだけでなく、植物の生育を促進させる効用があることを見いだした。

【0011】 本菌株は、PSA培地（ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地）において、紫紅色あるいは橙色などの色素を産生し、隔膜のない楕円形の小型分生胞子を短担子柄上に擬頭状に形成することからフザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) と同定されている。PS培地（ショ糖加用ジャガイモ煎汁培地）、PD培地（ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁培地）で液体培養すると厚膜胞子を多く形成する。ツアベック培地では増殖速度が遅い。

【0012】 ここで分離した菌株は、フザリウム・オキシスポラム NPF101-2 と命名し、これを工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-14236として寄託した。

【0013】 さらに、本発明者らは、根に共生する微生物で植物を健全に生育させるものを探索しているうち

に、シンビジュームの根に共生している菌から分離したものがフザリウム、リゾクトニア、ピシウムによる土壤病害に対して抑制作用があることを見いだした。更に、病害防除のみならず植物の生育促進効果を持つことも発見した。植物の生育促進作用があるため病害に対して、より強い抑制作用があるものと考えられる。

【0014】この菌株は以下のような菌の性質、培養条件などからフザリウム・オキシスポラム属菌と判明した。

(1) PSA培地（ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地）で培養すると、オレンジ色もしくは紫色の色素産生が認められる。

(2) PSA培地で培養すると、三日月型の大型分生子を形成し、また多量の小型分生子を短担子柄上に凝頭状に形成する。

(3) ツアベック培地で培養すれば、菌糸伸長が旺盛で分生子の形成が少ない。

(4) PDA培地（デキストロース加用ジャガイモ煎汁寒天培地）に良好に生育し、オレンジもしくは紫色の色素を産生する。

【0015】本菌株は、ES-シ305と命名し、工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-13896として寄託した。

【0016】NPF101-2とES-シ305は共にフザリウム・オキシスポラムに属する菌であるが、植物への寄生部位が微妙に異なっている。NPF101-2は植物の導管に寄生して、茎、根及び葉の下葉に観察される。ES-シ305は根の表面に寄生し一部が導管に寄生する。

【0017】本発明に係る菌株は、上記したところ及び後記する実施例からも明らかなように、植物生育促進機能と土壤病害防除機能とを併有するという従来未知の性質を有する点で特徴的であり、また本発明は、このようなフザリウム属に属する微生物を用いる農産園芸用微生物製剤を提供するものでもある。

【0018】本発明の菌株は、通常の糸状菌に用いられる固体培地あるいは液体培地を用いて培養することができる。例えば、固体培地としては米糠培地、ふすま培地、穀粒培地等で培養できる。液体培地としては、炭素源としてグルコース、シュクロース、マルトース、デキストロース等が使用できる。培養pHは5～7が好ましく最適pHは6である。培養温度は15～30℃であり、最適は25℃である。

【0019】本発明の菌株であるNPF101-2は、非病原性フザリウム菌の交叉防御による植物への病害抵抗性を付与する作用で病害防除を行うことは周知の事実である。ES-シ305も同様の作用を持つと推察される。土壤病害としてハウレンソウ萎ちょう病、ダイコン萎黄病、メロンつる割れ病、イチゴ萎黄病等が挙げられる。

【0020】さらにES-シ305はリゾクトニア菌（*Rhizoctonia*）による病害も抑える効果が見られた。リゾクトニア菌との拮抗作用および病害抵抗性付与作用などで防除効果が出るものと思われる。土壤病害としてハウレンソウ株腐病、トマト苗立枯病、キュウリ苗立枯病、ニンジン根腐病などが挙げられる。

【0021】また本発明の菌株は、全く予測せざることに、上記した土壤病害抑制効果を奏するのみでなく、同時に顕著な植物生育促進効果も併有する。このような併有効果を有するフザリウム属菌は、未だ分離されることがなく新規である。

【0022】本発明は、このようなすぐれた性質を利用した新規微生物製剤を提供するものであるが、それには、菌体、菌体含有物、及び／又は処理物を製剤化する。

【0023】本菌株は、固体培養後そのままか、または液体培養の場合は濾過や遠心分離等の操作で菌体を取り出し、乾燥、固形物への吸着等により製剤化することが可能である。さらに、安定剤、賦型剤、増量剤そして栄養剤等を加えて、目的に応じた製剤化することができる。ここで得られた製剤を植物に施用する方法としては、種子浸漬、苗床土施用、植え穴施用、苗の浸漬等の方法が直接植物の根に作用するため効果が高くなる。以上の方法を複数で組み合わせるとさらに効果が高くなる。

【0024】本発明において、菌体含有物とは、固体（又は液体）培養後に得られる菌体を含む培養物のほか菌体を含むものであればすべてのものを指す。処理物とは、菌体及び菌体含有物を各種処理したものをすべて指し、例えば、ウェットケーキ、培養物をペースト化したもの、更に脱水したもの、乾燥したもの、逆に希釈したもの等が挙げられる。

【0025】以下、本発明を実施例に基づいて説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0026】

【実施例1】菌株NPF101-2（FERM P-14236）をPS培地（ジャガイモ200gを煎汁した溶液1Lに対して蔗糖20gを加えた培地）3Lを入れたジャーファーマンターで25℃で7日間培養を行った。これにはフザリウム・オキシスポラムNPF101-2菌の胞子が 10^7 個/ml含まれていた。

【0027】

【実施例2】菌株フザリウム・オキシスポラムES-シ305（FERM P-13896）をライ麦培地で10日間培養した菌体物を、30℃にて乾燥し粉砕機（不二パウダル社製サンプルミル）で粉にして微生物製剤を作成した。これにはフザリウム・オキシスポラムES-シ305菌の胞子が 10^8 個/g含まれていた。

【0028】

【実施例3】菌株フザリウム・オキシスポラムES-シ

305 (FERM P-13896) を、PS培地 (ジャガイモ200gを煎汁した溶液1Lに対して蔗糖20gを加えた培地) 3Lを入れたジャーファーマンターに植菌し、25℃で5日間培養を行った。培養液を遠心分離し孢子・菌体物を濃縮した後、ゼオライト (イズカライト: 約1mmの粒状物) を加えて混合し培養物を吸着させ30℃で乾燥して粒状物を得た。これにはフザリウム・オキシスポラムES-シ305菌の孢子が 10^8 個/g含まれていた。

【0029】

【実施例4 (野菜の生育促進試験)】黒ボク土をオート*

表1. 生育促進試験の草丈及び重量 (対照区の指数を100として表した)

作物	キュウリ	カボチャ	トマト	ホウレンソウ	シュンギク
草丈	167	110	119	121	110
重量	324	103	444	160	100

【0031】上記結果から明らかなように、いずれも生育促進効果が顕著に出ている。

【0032】

【実施例5 (果菜類の生育促進試験)】実施例2のフザリウム・オキシスポラムES-シ305菌の製剤を土壌 (そさい床土: 新日本パーライト社製) に0.5%混合して13cmの黒ポリポットに800g入れた。トマト、キュウリ、ナス、ピーマン、スイカ、メロンをあら※

表2. 果菜類の葉令及び草丈 (対照区の指数を100として表した)

作物	トマト	キュウリ	ナス	ピーマン	スイカ	メロン
葉令	108	109	100	106	103	118
草丈	131	129	104	112	116	118

【0034】上記結果から明らかなように、いずれも生育促進効果が顕著に出ている。

【0035】

【実施例6 (ホウレンソウの生育促進効果試験)】実施例3のフザリウム・オキシスポラムES-シ305菌の製剤を滅菌水中に懸濁させ 10^6 個/mlの孢子液を作成し、これにホウレンソウ (品種: アトラス) の種子を25℃で15時間浸漬し催芽させた。対照区は蒸留水に同様に浸漬した。別に13cmの黒ポリポットにそさい床土 (新日本パーライト製) を800g入れ、浸漬したホウレンソウの種子をポット当り10粒は種して栽培を行った。は種後30日目に生育調査した結果を下記表3に示した。

【0036】

【表3】

* クレープで高温加圧滅菌処理し、直径15cmの素焼き鉢に詰め (約1kg)、化成肥料 (14-14-14) を少量施用した後、実施例1のNPF101-2菌体を10ml接種した。その後、直ちにコマツナ、キュウリ、トマト、ホウレンソウ、シュンギクの種子を播種し、ガラス室内で栽培した。対照として、各作物とも滅菌土壌のみで栽培する区を設けた。45日後の草丈と地上部重量測定し、対照区を100とした指数で表した結果を、下記表1に示す。

10 【0030】

【表1】

※かじめ育苗床には種して本葉1~2枚までに生長させた苗を用意した。菌を混合した土壌の入ったポットに植替え (鉢上げ) を行い30日間栽培を行った。対照区として土壌のみで栽培を行った。30日後の葉令と草丈を測定し、対照区を100とした指数で表した結果を、下記表2に示す。

【0033】

【表2】

表3. ホウレンソウ生育調査結果

試験区	葉長	地上部生重	乾燥根重
実施例6	11.6 (112)	1.98 (151)	0.65 (127)
対照区	10.4 (100)	1.31 (100)	0.51 (100)

【0037】上記結果からも明らかなように、卓越した生長促進効果が認められる。

【0038】

【実施例7 (ホウレンソウ萎ちょう病防除試験)】病原菌としてホウレンソウ萎ちょう病菌 (フザリウム菌) をフスマ培地で培養したもの (孢子が 10^8 個/g含有) を土壌 (そさい床土) に混合して (土壌: フスマ培地 3:1) 7日間ガラス温室に放置し、病土を作成した。

【0039】実施例3のフザリウム・オキシスポラムES-シ305菌の製剤を滅菌水中に懸濁させ 10^6 個/mlの孢子液を作成し、これにホウレンソウ (品種: アトラス) の種子を25℃で15時間浸漬し、催芽させ

た。また、ハウレンソウ萎ちょう病の病土にES-シ305製剤を1%混合した土壌を作成して、13cmの黒ポリポットに800g入れた。これに浸漬した種子をポット当たり10粒は種して栽培を行った。

【0040】対照区1：種子を蒸留水で同様に浸漬し催芽させた。病土のみを同様のポットに入れ、は種前にベンレート水和剤1000倍希釈液100mlをかん水した後、浸漬した種子をポット当たり10粒は種して栽培を*

*行った。

対照区2：種子を対照区1と同様に浸漬し、病土のみをポットに同様に投入し浸漬種子を同様には種して栽培を行った。

は種後、13日目、20日目の発病株率を測定した。その結果を下記表4に示す。

【0041】

【表4】

表4. ハウレンソウ萎ちょう病発病株率

試験区	発病株率 (%)	
	13日後	20日後
実施例7 (南種子浸漬、土壌混和)	6.1	32.7
対照区1 (ベンレート処理)	8.2	26.5
対照区2 (病土のみ)	14.3	51.0

【0042】上記結果から明らかなように、ES-シ305菌を処理することにより、発病が、農薬のベンレート並に抑えられることがわかった。

【0043】

【実施例8（ハウレンソウ株腐病防除試験）】病原菌が※

※ハウレンソウ株腐病菌（リゾクトニア菌）に変わるほかは実施例7と同様にして試験を行い、発病株率を経時的に調査した。その結果を下記表5に示す。

【0044】

【表5】

表5. ハウレンソウ株腐病発病株率

試験区	6日後	発病株率 (%)	
		12日後	21日後
実施例8 (南種子浸漬、土壌混和)	7.3	19.5	24.4
対照区1 (ベンレート処理)	2.0	2.0	18.4
対照区2 (病土のみ)	100	100	100

【0045】上記結果から明らかなように、本発明菌によれば、農薬よりわずかに発病が見られるが、病土のみが100%発病しているのに対して明らかに効果が現れている。

【0046】

【実施例9（ハウレンソウ萎ちょう病防除試験）】病原菌としてハウレンソウ萎ちょう病菌（フザリウム菌）をフスマ培地で培養したもの（胞子が 10^6 個/g含有）を土壌（そさい床土）に混合した（土壌：フスマ培地3：1）。これに実施例1のNPF101-2菌を1%土壌混入させ7日間ガラス温室に放置しておいた。

【0047】実施例1の菌体を滅菌水で希釈し、分生子が 10^6 個/mlになるように調整した液を作成し、これにハウレンソウ（品種：アトラス）の種子を25℃で15時間浸漬し催芽させた。調整した土壌を13cm黒

ポリポットに800g入れて、浸漬した種子をポット当たり10粒は種して栽培を行った。

【0048】対照区1：種子を蒸留水で同様に浸漬し催芽させた。病土のみを同様のポットに入れ、は種前にベンレート水和剤1000倍希釈液100mlをかん水した後、浸漬した種子をポット当たり10粒は種して栽培を行った。

対照区2：種子を対照区1と同様に浸漬し、病土のみをポットに同様に投入し浸漬種子を同様には種して栽培を行った。

は種後、13日目、21日目、35日目の発病株率を測定した。その結果を下記表6に示す。

【0049】

【表6】

表6. ホウレンソウ株腐病発病株率

試 験 区	発病株率 (%)		
	13日後	21日後	35日後
実施例9 (菌種子浸漬、土壌混和)	2.1	5.2	16.5
対照区1 (ベンレート処理)	1.4	2.8	2.8
対照区2 (病土のみ)	6.4	48.9	94.7

【0050】上記結果から明らかなように、NPF101-2菌により、発病を抑えていることがわかる。

【0051】

【発明の効果】本発明の菌株を用いた微生物製剤を用いることにより、植物の生育促進を計ると共に、土壌病害菌を抑制することができ、無農薬による作物生産を可能にし、人の健康は勿論、自然生態系や環境保全に役立つ*

*ものである。

【0052】このように、本発明は、安全性にすぐれているので、農薬公害がクローズアップされている現代の技術的要請にまさに適合するものである。また、本発明によれば、健全な植物の育成と土壌病害菌の抑制という両面から植物病害の抑制を図るものであって、新しい植物病害防除システムに途を拓くものである。

フロントページの続き

(72)発明者 小田 正文

熊本県阿蘇郡西原村大字烏子312番地4

エーザイ生科研熊本事業所内